

DOI: 10.5846/stxb201806211365

路颖, 李坤, 梁强, 李传荣, 张彩虹. 泰山 4 种优势造林树种叶片凋落物分解对凋落物内细菌群落结构的影响. 生态学报, 2019, 39(9): - .

Lu Y, Li K, Liang Q, Li C R, Zhang C H. Effects of leaf litter decomposition on bacterial community structure in the leaf litter of four dominant tree species in Mount Tai. Acta Ecologica Sinica, 2019, 39(9): - .

泰山 4 种优势造林树种叶片凋落物分解对凋落物内细菌群落结构的影响

路 颖^{1,2}, 李 坤^{1,2}, 梁 强^{1,2}, 李传荣^{1,2}, 张彩虹^{1,2,*}

1 国家林业局泰山森林生态系统定位研究站, 泰安 271018

2 山东农业大学农业生态与环境重点实验室, 泰安 271018

摘要:为研究泰山不同造林树种凋落物叶分解对细菌群落的影响。以泰山 4 种主要优势造林树种刺槐 (*Robinia pseudoacacia*)、麻栎 (*Quercus acutissima*)、油松 (*Pinus tabulaeformis*) 和赤松 (*Pinus densiflora*) 为研究对象, 采用凋落物分解袋法及 Illumina Miseq 测序平台对细菌 16S rDNA V4—V5 区扩增产物进行双端测序, 分析了 4 种树种叶片凋落物分解对细菌群落结构及多样性的影响。结果表明: (1) 4 种树种叶片分解速率差异显著 ($P < 0.05$), 刺槐分解速率显著高于其他 3 个树种 ($P < 0.05$), 表现为刺槐 > 赤松 > 油松 > 麻栎。 (2) 4 种叶凋落物分解一年后化学元素含量与初始化学元素相比均存在显著差异。C、木质素含量均显著降低 ($P < 0.05$); N、P 含量显著升高 ($P < 0.05$)。 (3) 所有样品一共获得 643440 条有效序列, 分属于 35 门, 92 纲, 121 目, 246 科, 410 属, 206 种。细菌群落 NMDS β -多样性分析显示除油松和赤松间差异较小外, 其他树种间差异程度均较大。其中, 细菌群落相对丰度在 5% 以上的优势类群是变形菌门、放线菌门、拟杆菌门、酸杆菌门, 且在 4 种处理之间差异显著 ($P < 0.05$)。在纲水平上, α -变形菌纲、 β -变形菌纲、不明放线菌纲、鞘脂杆菌纲、 γ -变形菌纲、 δ -变形菌纲为主要的优势纲, 其中不明放线菌纲和鞘脂杆菌纲差异显著 ($P < 0.05$)。在种水平上, *Bradyrhizobium elkanii* 和 *Luteibacter rhizovicinus* 在 4 个处理中都为优势种, 每个处理也都有自己所特有的优势种。 (4) 4 个处理细菌丰富度 (OUT、观测到的物种数和 ACE 指数) 和系统发育多样性 (PD 指数) 之间差异显著 ($P < 0.05$), 且阔叶树种刺槐和麻栎显著高于针叶树种赤松和油松。 (5) 叶片凋落物性状和细菌群落 NMDS 分析表明, 细菌群落多样性受到凋落物化学性质的影响, 尤其是凋落物初始 C/N 比和木质素/N 比。此外, 在细菌群落多样性和叶片凋落物化学性质两个因素中, 分解速率与凋落物化学性质相关性更大。研究结果有助于理解细菌群落结构和多样性对森林生态系统叶片凋落物分解的影响。

关键词:凋落物叶; 分解; 细菌群落; 多样性

Effects of leaf litter decomposition on bacterial community structure in the leaf litter of four dominant tree species in Mount Tai

LU Ying^{1,2}, LI Kun^{1,2}, LIANG Qiang^{1,2}, LI Chuanrong^{1,2}, ZHANG Caihong^{1,2,*}

1 Taishan Forest Ecosystem Research Station, Taian 271018, China

2 Key Laboratory of Agricultural Ecology and Environment of Shandong Agricultural University, Taian 271018, China

Abstract: The aim of this study was to identify the effects of leaf litter decomposition on bacterial community structure in the leaf litter of different tree species in Mount Tai. Four different dominant tree species *Robinia pseudoacacia* (RP), *Quercus acutissima* (QA), *Pinus tabulaeformis* (PT), and *Pinus densiflora* (PD) in a Yaolang Forest Farm were examined. Illumina high-throughput sequencing of the 16S rDNA genes was performed to analyze the effects of leaf litter

基金项目:国家自然科学基金项目 (31500362); 山东省“双一流”奖补资金资助 (SYL2017XTTD03); 山东省联合专项 (ZR2014CL005)

收稿日期:2018-06-21; **网络出版日期:**2018-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zhangcaihong78@163.com

decomposition on the bacterial community structure of four dominant tree species in Mount Tai. The results showed that: (1) leaf litter decomposition rates differed significantly among the four species ($P < 0.05$). In all treatments, RP leaf litter was obviously decomposed faster than other three tree species ($P < 0.05$). The sequence of decomposition rate was $RP > PD > PT > QA$. (2) After 1 year of decomposition of the four leaf litters, there was a significant difference between the current chemical element content and the initial content. Carbon and lignin contents were significantly decreased ($P < 0.05$), whereas nitrogen and phosphorous contents were significantly increased ($P < 0.05$). (3) A total of 643440 valid sequences were obtained for all samples, which were classified from phylum to genus in accordance with QIIME, and included 35 phyla, 92 classes, 121 orders, 246 families, 410 genus, and 206 species. The NMDS β -diversity analysis of the bacterial community showed that there was a significant difference between all species, except for PD and PT. At the phylum level, a total of four phyla were dominant ($>5\%$ across all treatments). Based on the average relative abundance, the most abundant phyla were *Proteobacteria*, *Actinomyces*, *Bacteroidetes* and *Acidobacteria*, although significant differences between the four treatments were found ($P < 0.05$). At the class level, a wide range of classes dominated. Based on the average relative abundance, the most abundant classes were *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, unidentified-*Actinobacteria*, *Sphingobacteria*, *Gammaproteobacteria*, and *Deltaproteobacteria*. Unidentified-*Actinobacteria* and *Sphingobacteria* were significantly different among the four treatments ($P < 0.05$). At the species level, *Bradyrhizobium elkanii* and *Luteibacter rhizovicinus* were the dominant species after all four treatments, each of which had its own dominant species. (4) There was significant difference between the average number of four-treated observed species, ACE and phylogenetic diversity (PD) ($P < 0.05$), and these numbers in broad-leaved species were obviously higher than those in coniferous species. (5) Non-Metric Multi-Dimensional Scaling (NMDS) analysis on leaf litter characters and bacterial communities showed that the diversity of bacterial communities was affected by the chemical properties of leaf litter, especially the initial C/N ratio and lignin/N ratio of the litter; In addition, between the two factors of bacterial community diversity and leaf litter chemistry, the decomposition rate was more correlated with the chemical properties of leaf litter itself. The results of this study can improve understanding of the effects of bacterial community structure and diversity on decomposition of leaf litter in forest ecosystem.

Key Words: leaf litter; decomposition; bacterial community; diversity

凋落物分解是森林土壤有机质和养分的主要来源之一,为微生物提供了丰富的营养源^[1-2]。不同的森林凋落物可以通过形成不同的微环境直接影响土壤细菌群落结构的组成,从而影响其分解速率^[3-5]。目前关于凋落物分解过程中微生物群落变化的研究主要是关注土壤中微生物群落结构^[6-7],而对分解过程中凋落物内微生物群落结构的研究涉及较少^[8]。细菌作为微生物中数量最大、种类最多的一类,具有含氮量高、含碳量低的特点,对土壤养分的形成与分解有促进作用^[9-11]。研究认为细菌在凋落物分解中的贡献被低估,当分解到后期时,凋落物养分降低,细菌群落生物量升高^[12-13]。目前细菌结构及多样性研究逐渐受到关注^[14-15]。

长期以来,土壤微生物研究受技术手段的限制,无法真实地、更全面地反映土壤微生物群落多样性^[16],特别是在凋落物分解过程中^[17]。新一代高通量测序技术在整体水平上破译了土壤微生物群落结构,将有助于获得土壤微生物群落结构的更全面而完整的信息,已经成为研究土壤微生物多样性的常规手段^[6,18]。目前,应用 Illumina Miseq 高通量测序技术研究凋落物内微生物群落结构方面的内容仍然较少。

泰山森林生态系统作为暖温带落叶森林生态系统的代表,已经受到研究者的关注。该系统树种组成单一,结构简单,往往是由一种乔木组成的纯林,林地内凋落物层稀薄导致土壤肥力较低,不利于森林群落长期持续地发展。这就要求深入了解林内养分的循环情况。因此,本研究采用高通量测序技术对细菌 16S rDNA V4—V5 区扩增产物进行双端测序,分析了泰山四种优势造林树种叶片凋落物分解对细菌群落结构的影响,为研究叶凋落物分解的微生物控制机制提供理论依据。

1 研究材料和方法

1.1 研究区概况

研究地点位于泰山森林生态系统观测研究站(117°05′—117°09′E, 36°17′—36°20′N), 本站位于山东省药乡林场。属于暖温带大陆性季风气候, 年均气温 18.5℃, 年均降水量 758 mm, 主要集中在 6—9 月。中低山丘陵地貌, 主要土壤类型为中性至酸性棕壤, 土层较薄, 厚度为 20—30 cm。地带性植被类型为暖温带落叶阔叶林, 目前森林覆盖率达 81.57%, 植被覆盖率达 90% 以上。主要森林类型为油松(*Pinus tabulaeformis*)、侧柏(*Platy cladusorientalis*)、赤松(*Pinus densiflora*)、刺槐(*Robinia pseudoacacia*)、麻栎(*Quercus acutissima*) 的人工林。

1.2 研究方法

1.2.1 试验设计及样品分析

样品收集: 本项目采用泰山站附近 4 种主要树种的叶片凋落物作为分解的材料。为了保证后期分解试验的顺利开展, 在试验开始之前收集刺槐(RP)、麻栎(QA)、赤松(PD)和油松(PT)的叶凋落物。叶凋落物收集采用林内收集筐的方式, 于 2015 年 9—10 月在各物种的纯林内布设 10 个凋落物收集筐, 并使收集筐分布广泛来减少误差, 将收集到的同种凋落物混合均匀, 以备使用。将收集到的叶凋落物置于室内风干备用。取小部分样品在 65℃ 烘箱内烘干至恒重, 计算分解底物风干/烘干换算系数比(计算含水量)。并测定初始样品的 C、N、P 和木质素含量。

试验布设及取样: 采用通用的凋落物袋的方法, 根据分解时间的长短以及所测指标的用量, 每个凋落物袋中装入风干的样品 6 g, 并根据样品量选择凋落物袋的大小为 15 cm×15 cm(网孔大小为 1 mm×1 mm)^[19]。2016 年 7 月, 采用随机区组设计将分解袋布设于 6 个重复的试验区内, 小区大小为 10 m×10 m, 相邻小区设置 5 m×5 m 的隔离带, 每个小区包含所有 4 个处理。将样品置于土壤表层, 先清理掉土壤表面的凋落物, 然后用自制 U 型钉将凋落物分解袋固定于土壤表面。试验持续时间为一年, 2017 年 7 月取样。取样时, 每个小区中每种处理取 1 袋, 清除凋落物表面粘附的土壤和长入的杂草。其中 3 袋重复样品标记后立即存于液氮中, 用于测定微生物细菌群落。样品 DNA 的提取以及细菌多样性数据的分析由北京诺禾致源科技股份有限公司完成。另外的 3 袋重复样品在实验室内去除其中的杂质, 65℃ 烘干至恒重, 然后称重, 并测定其灰分含量, 用于矫正干重。同时测定样品的 C、N、P 和木质素含量。

干重剩余率用 Olson^[20] 负指数衰减模型 $y = ae^{-kt}$ 进行拟合。式中, y 为干重残留率, a 为修正参数, k 为分解系数, t 为分解时间。凋落物中 C、N 含量采用元素分析仪(Vario Max CN), P 含量采用钼锑抗比色法, 木质素含量根据中国国家标准(GB/T 2677.8—1994; GB/T 10337—2008), 采用逐步提取和重量分析法。简而言之, 样品用苯酚乙醇溶液浸提后, 用 72% 浓硫酸溶液水解, 然后将悬浮物过滤掉, 用蒸馏水漂洗残余物质直至 BaCl₂ 溶液中澄清。

1.2.2 样品 DNA 提取和测序

样本基因组 DNA 的提取采用 CTAB 方法, 采用琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 纯度和浓度。16S rDNA V4—V5 区引物 515F/907R, 将 Bar—code 序列通常加在 515F 的 5′ 末端, 引物如下: 515F: 5′-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3′; 907R: 5′-CCGTCAATTCCTTTGAGTTT-3′。PCR 扩增体系: 2 * taq PCR mix: 25 μL; Primer F(10 μM): 1 μL; Primer FR(10 μM): 1 μL; gDNA: 2.5 μL; H₂O: 8 μL。PCR 反应程序为: 95℃ 预变性 5 min; 34 个循环包括(94℃, 1 min; 57℃, 45 s; 72℃, 1 min); 72℃, 10 min; 16℃, 5 min。New England Biolabs 公司的 Phusion® High-Fidelity PCR MasterMix with GC Buffer 和高效高保真酶进行 PCR, 确保扩增效率和准确性。委托北京诺禾致源测序公司(Novogene, China) 进行高通量测序。

1.3 数据处理

利用 Uparse 软件(Upase v7.0.1001)对所有样品的全部有效数据进行聚类, 选择 97% 相似水平的 OTU

代表序列进行分析。利用 Qiime 软件 (Version 1.35.1) 计算样品的 α 多样性指数, 反映不同树种叶片凋落物分解过程中细菌群落的丰度和多样性, 包括 Chao1 指数、ACE 指数、Coverage 指数、Simpson 指数和 Shannon 指数。利用 R 软件 (Version 2.15.3) 进行叶片分解细菌群落的 NMDS 分析。用 Anosim 方法对组间群落相似度进行非参数检验^[21]。不同叶片凋落物初始化学元素、分解速率以及主要细菌优势类群相对丰度、细菌多样性之间的差异采用单因素方差分析。叶片凋落物性状和细菌群落的 NMDS 用 Canoco 5.0 进行分析。

2 结果分析

2.1 不同物种叶凋落物分解过程的差异

从表 1 可以看出, 选择的 4 种叶凋落物初始化学性质之间存在显著差异。C 含量表现出针叶树种 (赤松 PD、油松 PT) 显著高于阔叶树种 (刺槐 RP、麻栎 QA) ($P < 0.05$); N 含量、N/P 比麻栎树种显著低于其他 3 个树种 ($P < 0.05$), 而 C/N 比麻栎显著高于其他 3 个树种 ($P < 0.05$); 木质素含量和木质素/N 比赤松树种均显著低于其他树种 ($P < 0.05$), 其中油松木质素含量最高, 显著高于其他 3 个树种 ($P < 0.05$), 麻栎的木质素/N 比最高, 显著高于其他 3 个树种 ($P < 0.05$)。

表 1 叶片凋落物初始化学元素含量的差异

Table 1 Differences in initial element contents of leaf litter

树种 Species	C Total carbon/%	N Total nitrogen/ %	P Total phosphorus/%	C/N Ratio of carbon; nitrogen	N/P Ratio of nitrogen; phosphorus	木质素 Lignin/%	木质素/N Ratio of lignin; nitrogen
RP	45.57±0.13c	1.86±0.05a	0.41±0.015a	24.58±0.57b	4.55±0.27a	28.84±0.36c	15.55±0.28c
QA	48.23±0.84b	1.21±0.03b	0.43±0.006a	39.91±1.03a	2.82±0.08b	33.63±0.57b	27.81±0.24a
PD	50.64±0.15a	2.02±0.01a	0.48±0.059a	25.10±0.16b	4.37±0.62a	22.83±0.54d	11.32±0.33d
PT	50.34±0.51a	1.90±0.08a	0.44±0.037a	26.64±0.89b	4.39±0.94a	37.21±0.61a	19.70±0.85b

RP: 刺槐, *Robinia pseudoacacia*; QA: 麻栎, *Quercus acutissima*; PD: 赤松, *Pinus densiflora*; PT: 油松, *Pinus tabulaeformis*; 同列不同的小写字母代表不同处理之间在 0.05 水平差异显著

对 4 种树种叶凋落物分解一年后化学元素含量与初始化学元素含量进行对比分析, 结果如图 1 所示。选择的 4 种叶凋落物分解一年后化学元素含量与初始化学元素相比均存在显著差异。C 含量均显著降低 ($P < 0.05$); N 含量除赤松升高不显著之外, 其他 3 个树种均显著升高 ($P < 0.05$); P 含量除刺槐升高不显著之外, 其他 3 个树种均显著升高 ($P < 0.05$); 木质素含量除赤松降低不显著之外, 均表现为显著降低 ($P < 0.05$)。

泰山 4 种主要优势造林树种叶凋落物分解速率之间差异显著 ($P < 0.05$)。图 2 可见, 刺槐分解速率显著高于其他 3 个树种 ($P < 0.05$), 而麻栎、油松、赤松之间差异不显著 ($P > 0.05$), 分解快慢表现为刺槐 > 赤松 > 油松 > 麻栎。

2.2 高通量测序数据的优化分析

利用 Qiime 软件做 Rarefaction 分析, 制作稀释曲线 (图 3)。由图 3 可见, 随着测序序列数目的增加, 12 个测序样本的曲线基本趋向平稳, 表明测序趋于饱和, 测得的数据量渐近合理, 能较真实地反应这 12 个样品中的微生物群落, 结合表 4 中的样品覆盖率, 说明测序结果中包含了大多数微生物类群, 更多的测序数据对新的 OUT 贡献率较小, 基本可以反映叶凋落物分解过程中微生物群落结构组成, 但可能仍有少量微生物种类未被发现。

2.3 细菌群落结构分析

高通量测序的结果显示所有样品一共获得 643440 条有效序列, 其中最少序列为 37636 条, 最多序列为 71004 条 (平均序列条数为 53620 条)。这些序列分属于 35 门, 92 纲, 121 目, 246 科, 410 属, 206 种。根据分类学注释结果, 分别在门和纲水平下进行样品物种丰度的统计分析。从图 4 可见, 在门水平上, 叶片凋落物分解中细菌类群多集中于变形菌门 (58.8%, Proteobacteria)、放线菌门 (15.3%, Actinobacteria)、拟杆菌门 (11.9%, Bacteroidetes)、酸杆菌门 (3.7%, Acidobacteria), 占总序列的 89.7%, 其中变形菌门占绝对优势。在纲

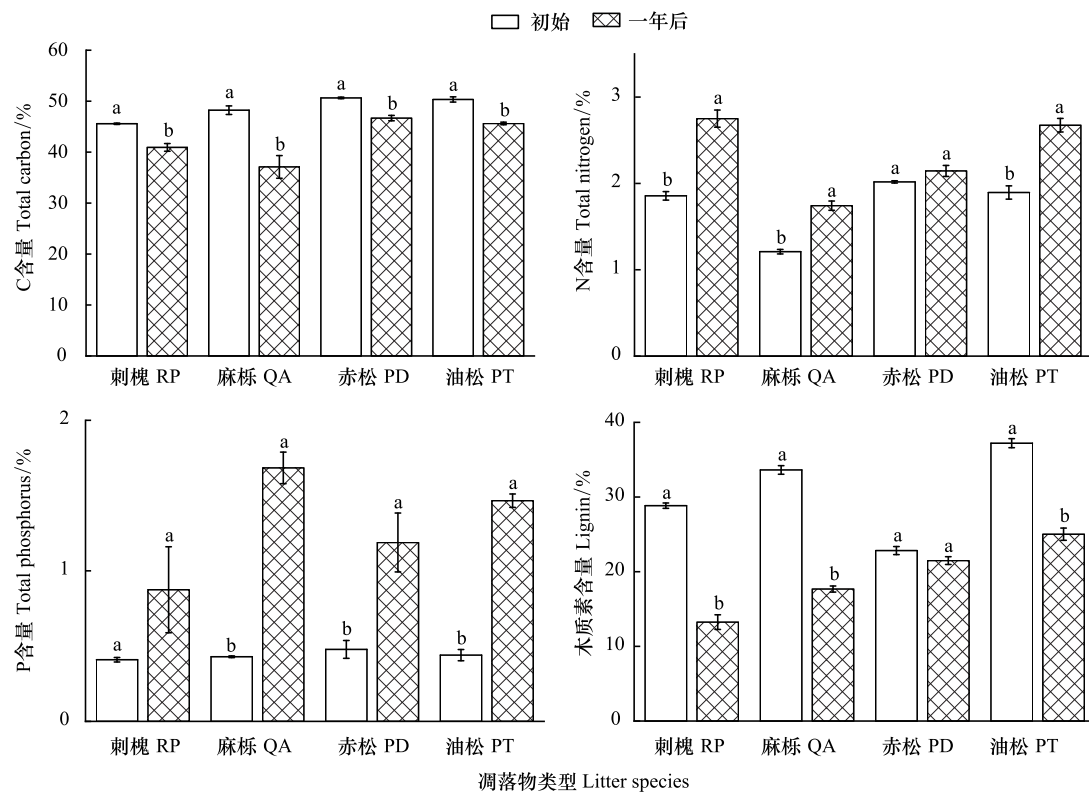


图 1 4 种叶凋落物分解一年后化学元素含量与初始化学元素差异。

Fig.1 Differences in element content between initial and after decomposing in one year for four leaf litter

RP:刺槐,*Robinia pseudoacacia*; QA:麻栎,*Quercus acutissima*; PD:赤松,*Pinus densiflora*; PT:油松,*Pinus tabulaeformis*;不同的小写字母代表不同处理之间在 0.05 水平差异显著

水平上,平均相对丰度大于 5% 的类群为 α -变形菌纲 (37.2%, Alphaproteobacteria)、 β -变形菌纲 (10.6%, Betaproteobacteria)、不明放线菌纲 (11.1%, unidentified-Actinobacteria)、鞘脂杆菌纲 (9.8%, Sphingobacteria)、 γ -变形菌纲 (8.6%, Gammaproteobacteria)、 δ -变形菌纲 (5.6%, Deltaproteobacteria)。

细菌群落的 NMDS 分析结果显示 (图 5), Stress 为 0.084, 说明 NMDS 可以准确反映样品间的差异程度。样品的空间差异明显, 4 个树种之间油松和赤松表现出较高的相似性, 聚类位置较为接近。即除油松和赤松间差异较小外, 其他树种间差异程度均较大。用 Anosim 方法对组间群落相似度进行非参数检验。结果也显示 (表 2), 除油松和赤松外, 细菌群落结构均存在显著差异, 与图 5 结果一致。

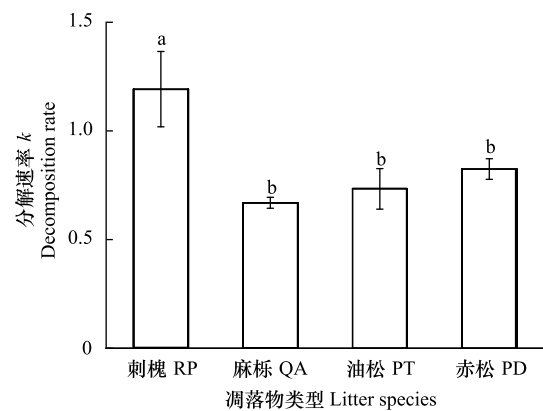


图 2 4 种植物叶片凋落物分解速率 k 之间的差异

Fig.2 Difference in decomposition rate k between four plants

表 2 组间细菌群落结构差异 Anosim 显著性检验

Table 2 Anosim significance test of bacterial community structure difference between groups

分组 Groups	QA-PD	RP-PD	RP-QA	PD-PT	QA-PT	RP-PT
R 值 R-value	0.3704	0.07407	1	-0.1481	0.1481	0.2222

R 值介于 (-1, 1) 之间, R-value 大于 0, 说明组间差异显著。R-value 小于 0, 说明组内差异大于组间差异

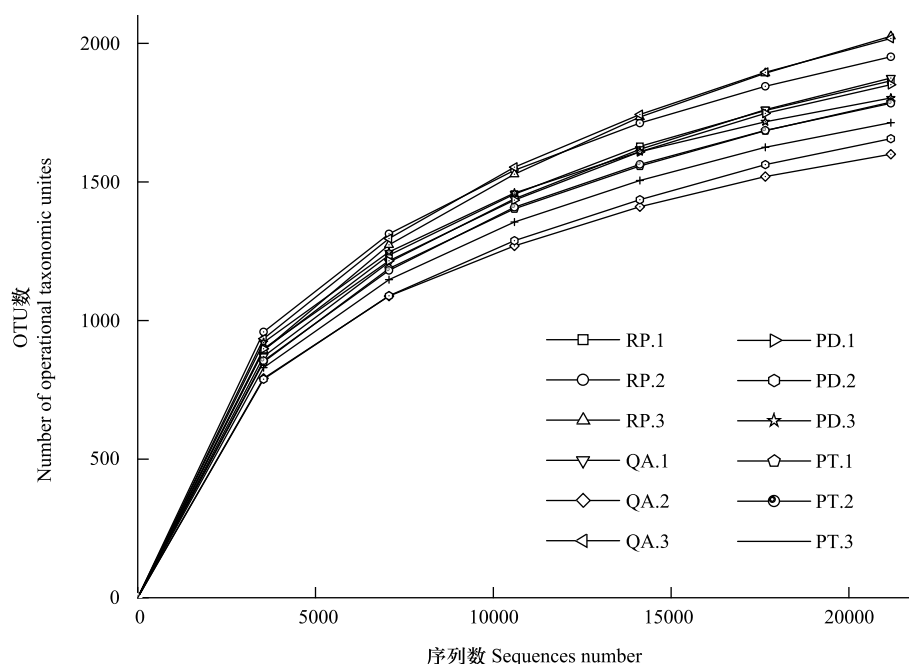


图3 稀释曲线

Fig.3 Rank Abundance

RP:刺槐, *Robinia pseudoacacia*; QA:麻栎, *Quercus acutissima*; PD:赤松, *Pinus densiflora*; PT:油松, *Pinus tabulaeformis*; 数字 1.2.3 表示同一处理的 3 个重复

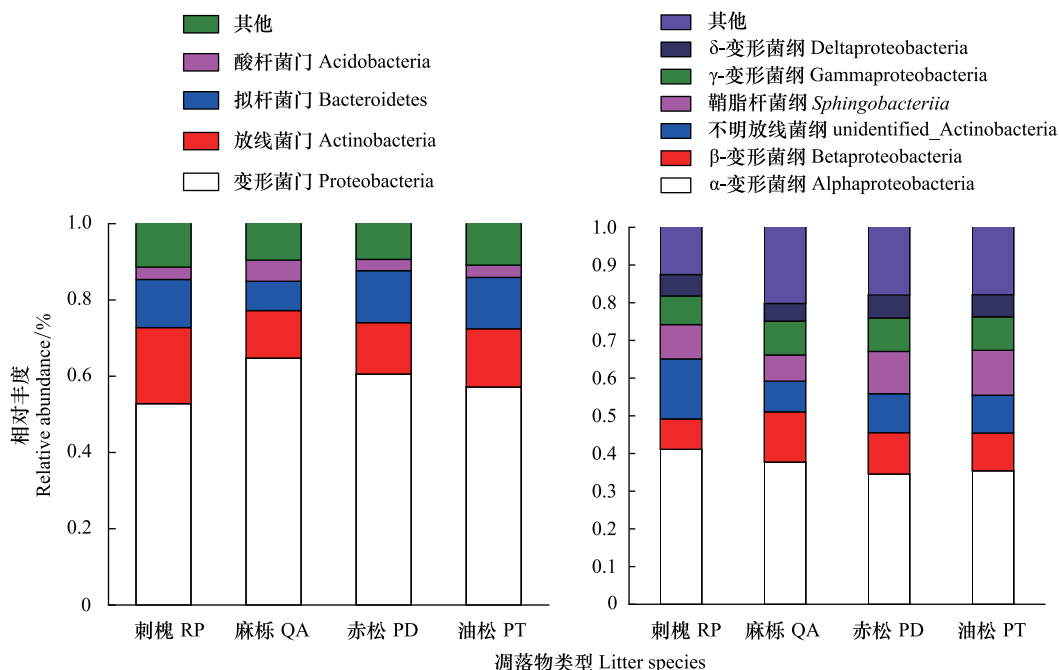


图4 叶片分解对细菌优势群落相对丰度的影响

Fig.4 The relative abundance of dominant bacterial communities after one year of leaf litter

由图 6 可知,在门的水平上,刺槐叶凋落物分解一年后相对丰度最大的变形菌门显著低于麻栎和赤松 ($P<0.05$),而放线菌门显著高于其他 3 个树种 ($P<0.05$);麻栎叶凋落物分解中变形菌门和酸杆菌门显著高于其他 3 个树种 ($P<0.05$),而拟杆菌门显著低于其他 3 个树种 ($P<0.05$);赤松和油松在 4 个门中差异均不显著

($P>0.05$)。在纲的水平上,刺槐叶凋落物分解中不明放线菌纲显著高于其他 3 个树种($P<0.05$),麻栎叶凋落物分解的鞘脂杆菌纲的相对丰度显著低于其他 3 个树种($P<0.05$)。

群落结构的变化主要是由优势种的变化引起的,我们选择 4 个处理细菌群落中相对丰度前 5 位的优势种进行进一步分析,结果如表 3 所示。由表可知,*Bradyrhizobium elkanii* 和 *Luteibacter rhizovicius* 在 4 个处理中都为优势种;*Sphingomonas soli* 和 *Streptomyces prunicolor* 是刺槐处理特有的优势种;*Labrysmiyagiensis* 和 *Sphingomonas sanxanigenens* 是麻栎特有的优势种;油松和赤松的优势种较为相似,其中 *Chitinophaga pinensis* 是赤松所特有,而 *Cercis gigantea* 是油松所特有。

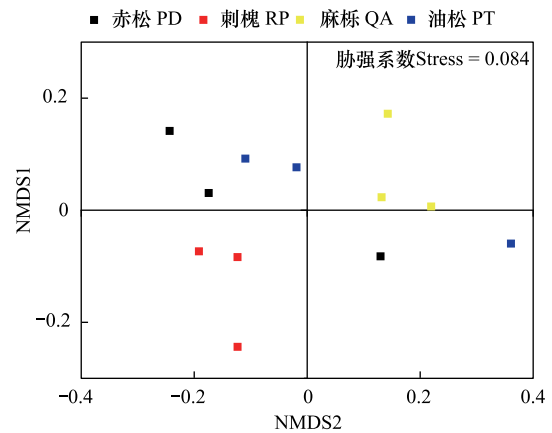


图 5 叶片分解细菌群落的非度量多维尺度 (NMDs) 分析
Fig.5 Non-Metric Multi-Dimensional Scaling (NMDs) analysis of bacterial community in leaf decomposition

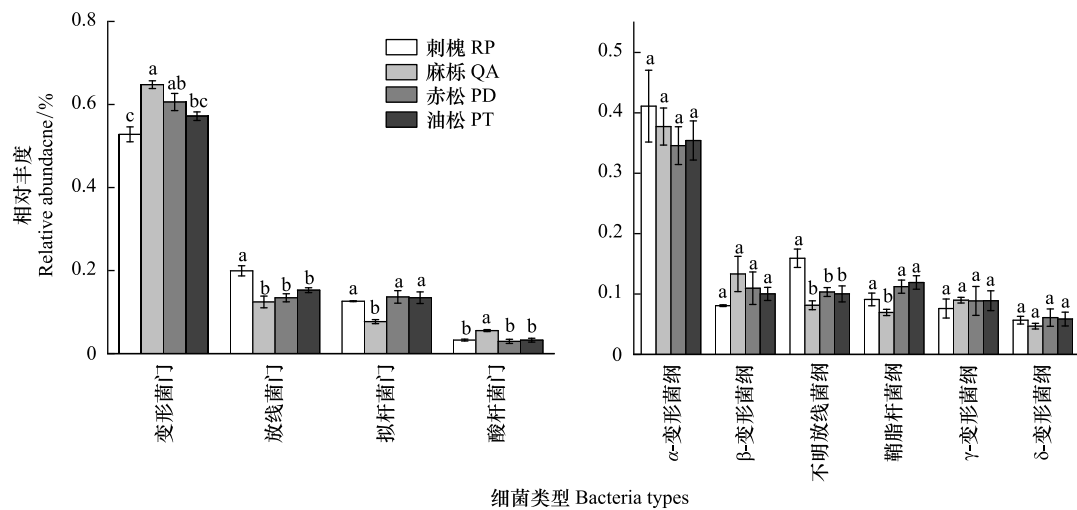


图 6 4 种处理之间主要细菌优势类群相对丰度的差异

Fig.6 Differences in relative abundances of major bacterial dominant groups between the four treatments

表 3 4 种叶凋落物细菌群落中优势种的相对丰度差异

Table 3 Relative abundance differences of dominant species in four leaf litter bacterial communities

细菌种类 Bacterial species	RP/%	QA/%	PD/%	PT/%
<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	2.30	7.68	2.65	3.41
<i>Sphingomonas soli</i>	0.74			
<i>Luteibacter rhizovicius</i>	0.71	1.20	2.00	1.59
<i>Rhizobium cellulosilyticum</i>	0.69		1.80	1.00
<i>Streptomyces prunicolor</i>	0.66			
<i>Burkholderia dipogonis</i>		4.20	1.04	1.81
<i>Labrys miyagiensis</i>		0.73		
<i>Sphingomonas sanxanigenens</i>		0.47		
<i>Chitinophag apinensis</i>			0.67	
<i>Cercis gigantea</i>				0.75

2.4 叶片凋落物分解对细菌多样性的影响

从表 4 可以看出,叶凋落物分解一年后微生物基因序列的覆盖率均达到 96.8% 以上,说明所测定序列可以充分反映样本细菌群落的种类和结构。4 个树种叶凋落物分解一年后细菌丰富度 (OUT、观测到的物种数、Chao1 和 ACE) 和系统发育多样性 (PD) 之间有显著差异 ($P < 0.05$),且阔叶树种刺槐和麻栎高于针叶树种赤松和油松。菌群多样性香浓维纳指数麻栎最低,显著低于其他 3 个树种 ($P < 0.05$),表现为刺槐 > 赤松 > 油松 > 麻栎。

表 4 叶凋落物分解一年后细菌多样性统计分析

Table 4 Statistical analysis of bacterial diversity after one year of leaf litter decomposition

物种 Species	物种数 Observed-species	覆盖率 Coverage/%	chao1 指数 Chao1 index	ACE 指数 ACE index	PD 指数 PD index	香浓维纳指数 Shannon-Wiener index
RP	2000±17a	96.8±0.003b	2729.5±92.5a	2731.0±109.0a	145.3±0.7a	9.13±0.11a
QA	1946±83ab	96.8±0.001b	2672.9±19.1a	2706.4±65.9a	142.5±5.8ab	8.38±0.07c
PD	1832±18bc	97.5±0.002a	2221.5±86.4b	2282.3±98.8b	134.3±2.6ab	8.97±0.52ab
PT	1776±21c	97.4±0.001a	2275.8±88.7b	2311.5±60.5b	132.8±0.7b	8.78±0.03b

2.5 叶片凋落物性状与细菌群落 NMDS 分析

利用 Canoco5.0 软件对叶片凋落物性状和细菌群落进行 NMDS 分析 (图 7),结果显示,Stress 值为 0.0005,说明本分析具有很好的代表性,叶片凋落物性状与细菌群落之间的影响特别适合用 NMDS 进行评估。在所研究的 21 个因子中,根据 NMDS 分析结果显示,分解速率 k 值与初始 C/N 比相关性最大,其次是与初始的木质素/N 比和菌群多样性香浓维纳指数;菌群多样性香浓维纳指数与叶片凋落物初始木质素/N 比相关性最大,其次是初始木质素含量和 C/N 比;细菌群落覆盖率及菌群丰度指数 (Chao1、ACE) 与分解一年后的 N 含量、木质素含量以及 C 含量相关性较大;细菌群落物种数与分解一年后 N 含量、N/P 比以及 P 含量相关性较大。

3 讨论

3.1 不同造林树种叶片凋落物化学元素含量的差异

凋落物性质与物种密切相关^[22]。选择的 4 种叶片凋落物初始化学性质之间存在显著差异 (表 1)。研究表明,凋落物中 C 含量越低,分解速率越快^[19]。本研究中 C 含量表现出针叶树种 (赤松 PD、油松 PT) 显著高于阔叶树种 (刺槐 RP、麻栎 QA),其中刺槐的 C 含量最低,这可能是刺槐分解较快的原因。大量的研究发现,凋落物初始 N 含量以及与 N 相关的底物质量指标和凋落物分解速率有很好的相关关系,C/N 比和木质素/N 比等指标常被用于预测凋落物的分解速率^[23-24]。本研究结果显示,N 含量、N/P 比麻栎树种显著低于其他 3 个树种,而 C/N 比、木质素/N 比麻栎显著高于其他 3 个树种,这也可能是麻栎分解较慢的原因。由于 N、P 有效性在不同生态系统间的差异,因此有些研究者认为 N 和 P 对凋落物分解限制的相对重要性也不同,当 N/P 比低时受 N 限制,当 N/P 比高时受 P 限制 (通常认为 N/P 比 < 14 时受 N 限制,N/P 比 > 16 时受 P 限制,当 N/P 比在 14 和 16 之间受到 N、P 的共同限制)^[25]。本研究结果 N/P 比均 < 14,所以在本研究区域凋落物分解受 N 含量限制较多。

选择的 4 种叶凋落物分解一年后化学元素含量与初始化学元素相比均存在显著差异 (图 1)。结果显示,4 种树种叶片凋落物 C 含量均显著降低,与赵谷凤等^[26]对青冈常绿阔叶林凋落物分解过程中营养元素动态研究结果一致。叶片凋落物分解一年后,4 种叶片凋落物中 N、P 含量总体均呈增大趋势,与葛晓敏^[27]、施昀希^[28]等研究的结果相吻合。N 和 P 在含量上的增加都是十分普遍的。N 含量的提高与微生物固 N、降水及菌根的吸收等作用有关^[29]。有研究表明,凋落物分解的初级阶段经常需要富集 P,因为新鲜凋落物中的 P 养分不足以维持分解者的生长,而凋落物分解速率常与 P 及其相联系的凋落物质量指标显著相关^[3,30]。木质素

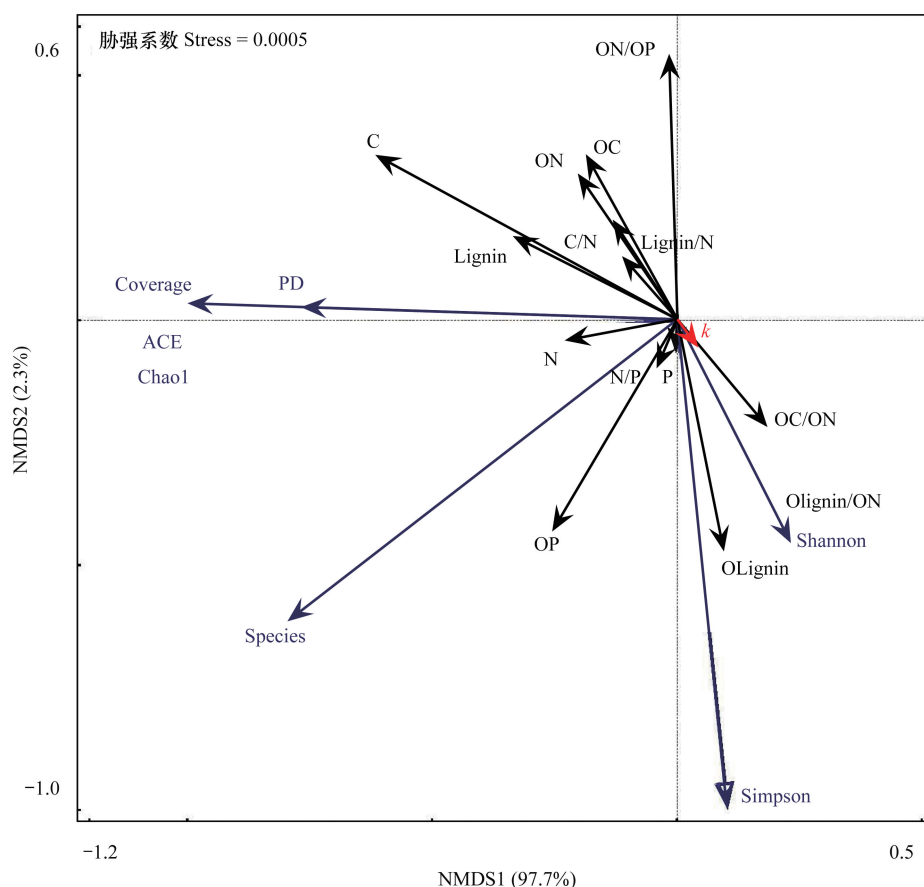


图 7 叶片凋落物性状和细菌群落的非度量多维尺度 (NMDS) 分析

Fig.7 Non-Metric Multi-Dimensional Scaling (NMDS) analysis of leaf litter characters and bacterial communities

C: 总碳含量, Total carbon; N: 总氮含量, Total nitrogen; P: 总磷含量, Total phosphorus; C/N: 碳氮比, Ratio of carbon: nitrogen; N/P: 氮磷比, Ratio of nitrogen: phosphorus; Lignin: 木质素含量, Lignin; Lignin/N: 木质素氮比, Ratio of lignin: nitrogen; OC: 初始总碳含量, Original total carbon; ON: 初始总氮含量, Original total nitrogen; OP: 初始总磷含量, Original total phosphorus; OC/ON: 初始碳氮比, Ratio of original carbon: original nitrogen; ON/OP: 初始氮磷比, Ratio of original nitrogen: original phosphorus; OLignin: 初始木质素含量, Original lignin; OLignin/ON: 初始木质素氮比, Ratio of Original lignin: Original nitrogen; Species: 物种数, Observed-species; Coverage: 覆盖率, Coverage; Chao1: Chao1 指数, Chao1 index; ACE: ACE 指数, ACE index; PD: PD 指数, PD index; Shannon: 香浓维纳指数, Shannon-Wiener index; Simpson: Simpson 指数, Simpson index; k: 分解速率, decomposition rate k

在凋落物分解过程中属于难分解成分^[19],在木质素含量高(>25%)的凋落物中,木质素是预测凋落物分解的较好指标^[31]。本研究结果显示,木质素含量除赤松降低不显著之外,均表现为显著降低。覃扬浚等^[32]对漓江流域岩溶区櫟木群落不同恢复阶段凋落物分解初期动态研究发现,经过一年分解后,乔林阶段木质素含量较初始含量有所减少,这与本研究结果一致。

3.2 不同造林树种叶片凋落物分解一年后细菌群落结构与群落多样性的差异

前人研究认为细菌在分解后期起主要作用^[13,33]。叶凋落物细菌群落 NMDS 分析(图 5)与 Anosim 组间细菌群落结构差异显著性检验(表 2)均显示,除油松和赤松外,细菌群落结构均存在显著差异。分解一年后,主要的优势细菌门是变形菌门、放线菌门、拟杆菌门和酸杆菌门(图 4)。朱平等^[5]在青藏高原北麓河流域分析草甸、草原和荒漠草原土壤细菌群落结构差异发现主要优势菌群为变形菌门、放线菌门、酸杆菌门、拟杆菌门 4 个门类,与本研究结果一致。许多研究也表明酸杆菌门、变形菌门、放线菌门细菌是不同植被土壤中的优势群落^[11,34]。例如翟婉璐、丁新景等研究表明变形菌门、酸杆菌门和放线菌门分别是林地和黄河三角洲人工林土壤中主要优势群落^[15,35]。这应该与酸杆菌门、变形菌门、放线菌门 3 门细菌的生态幅有关,它们的生态幅

较宽因此受环境影响也较小^[36-37]。变形菌门细菌是土壤环境中的一大类细菌群落,部分变形菌门细菌能够利用有机物分解产生的氨气、甲烷等营养物质进行生长代谢活动^[38]。本研究中,叶片凋落物分解一年后细菌相对丰度最大的是变形菌门,被视为树叶分解转化的主要功能细菌,该研究结果与先前研究结果相一致^[39]。放线菌大部分属于腐生菌,Crawford 等^[40]的研究表明放线菌门的部分细菌种群能够产生分解木质素的酶,具有分解木质素和纤维素的能力,起到分解植物有机残体的作用。分解后期叶片凋落物残留主要是一些难分解的木质素等,刺槐的放线菌门相对丰度最大(图 6),这也可能是刺槐分解最快的主要原因。拟杆菌门的细菌能破坏复杂的生物大分子,因此其与木质纤维素凋落物的分解相关^[41]。本研究中,麻栎中拟杆菌门的相对丰度显著低于其他 3 个树种(图 6),这主要由于麻栎初始木质素含量以及木质素/N 比含量较低(表 1),不利于拟杆菌门的生长。有研究表明酸杆菌门细菌在不同 pH 土壤中相对丰度不同,在酸性土壤中丰度较高,碱性土壤中较低^[42]。本研究样地土壤 pH 值 6.5 左右^[43],呈弱酸性,所以酸杆菌门相对丰度较高。其中麻栎中酸杆菌门的相对丰度显著高于其他 3 个树种(图 6),而 C 含量也相对较低,这与前人研究略有差异^[44]。这可能是由于前人研究的是可溶性有机碳,而我们测得是凋落物内全碳含量。Magill 等^[45]对森林土壤的研究表明,土壤中 N 含量的增加会使酸杆菌门的多样性增加。而本研究结果显示麻栎的 N 含量最低而酸杆菌门的相对丰度却最大,与前人结果相反。这可能与研究条件不同有关,我们研究的是凋落物内 N 含量而不是土壤中 N 含量。

在纲的水平上,叶片凋落物分解一年后, α -变形菌纲、 β -变形菌纲、不明放线菌纲、鞘脂杆菌纲、 γ -变形菌纲、 δ -变形菌纲相对丰度较高,其中 α -变形菌纲的相对丰度最大(图 4)。 α -变形菌包括大量的参与 C、N 循环的细菌、这些细菌的增加对生态系统氮的稳定性和土壤能量的平衡起到重要的作用,对植物生长具有重要意义^[35]。研究结果显示,刺槐分解中不明放线菌纲显著高于其他 3 个树种(图 6, $P < 0.05$),这与前面放线菌门的结果一致(图 4)。麻栎凋落物叶分解的鞘脂杆菌纲的相对丰度显著低于其他 3 个树种(图 6, $P < 0.05$)。鞘脂杆菌纲有利于凋落物中纤维素的降解^[46],这可能是麻栎分解最慢的原因(图 2)。

在种的水平上,*Bradyrhizobium elkanii* 和 *Luteibacter rhizovicius* 在 4 个树种中都为优势种(表 3)。埃氏慢生根瘤菌(*Bradyrhizobium elkanii*)是主要的固氮菌种,C/N 比是调控地上植物群落与固氮微生物群落动态的关键因子^[47]。本研究结果也显示在 4 个树种中埃氏慢生根瘤菌的相对丰度与叶片凋落物初始 C/N 比相一致。*Luteibacter rhizovicius* 属于黄单胞菌科(*Xanthomonadaceae*),是主要产几丁质酶的菌株^[48],有助于叶片凋落物的分解。除此之外,每个树种也都有自己所特有的优势种(表 3)。不同树种中优势种的差异也可能是造成物种间群落结构差异的一个重要原因。四种叶片凋落物分解一年后,细菌丰富度(OUT、观测到的物种数、Chao1、ACE)和系统发育多样性(PD)之间存在差异,且阔叶树种刺槐和麻栎高于针叶树种赤松和油松(表 4)。前人对叶片凋落物分解的研究结果也发现针叶凋落物内细菌多样性低于阔叶凋落物^[8],与本研究结果一致。不同的树种凋落物中含有不同的碳源和氮源,驱使土壤微生物集群定向进化,进而改变土壤肥力,阔叶林之间微生物群落结构组成相近^[39]。其原因可能是阔叶林树叶分解引入土壤中碳含量比针叶林高,且阔叶林中包含更为丰富的碳源种类,导致了阔叶林下土壤微生物多样性高于针叶林^[49]。

3.3 细菌群落多样性与叶片凋落物化学性质的关系

细菌在凋落物分解上的贡献受到凋落物化学组成的影响^[12]。菌群多样性香浓维纳指数与叶片凋落物初始木质素/N 比相关性最大,其次是初始木质素含量和 C/N 比(图 7)。前人大量研究也表明,细菌群落多样性与分解底物初始化学性质相关,但结论并不一致^[50]。Hawke 和 VMLance^[51]认为 C/N 比能够调节土壤微生物繁衍和养分释放之间的平衡。陈法霖等^[6]通过研究凋落物分解过程中的土壤微生物群落发现,细菌占微生物群落的比重与凋落物初始 C/N 比、木质素/N 比呈显著负相关。一般来说,新鲜凋落物的 C/N 比高于微生物分解者,微生物需要从周围环境(土壤或降水)获取养分来维持其自身的生长需求^[52]。细菌群落覆盖率及菌群丰度指数(Chao1、ACE、PD)与分解一年后的 N 含量、木质素含量以及 C 含量相关性较大;细菌群落物种数与分解一年后 N 含量、N/P 比以及 P 含量相关性较大(图 7)。Zhao et al.^[53]的研究发现分解过程中细菌

群落结构受到凋落物内 C 含量的调节,而凋落物 N 含量并不会影响细菌群落结构。而我们的结果显示菌群多样性与凋落物内 N 含量有很大相关性,与其结果不一致。这可能是由于研究环境条件的差异,我们的研究关注的是叶片凋落物在森林中的分解,而该研究关注的是叶片在淡水中的分解。而且研究方法也不同,我们的结果是基于高通量测序,更能真实地、全面地反映微生物群落多样性。Zhao et al.^[44]认为细菌丰度与磷浓度正相关。我们的研究也发现细菌群落数与 P 含量相关性较大,与其结果一致。不过与 N 相比,人们对 P 与微生物结构和功能的关系了解较少^[54],应该更进一步的研究。

叶片凋落物性状和细菌群落的 NMDS 分析结果也显示(图 7),分解速率 k 值与菌群多样性香浓维纳指数有很大的相关性。这与前人研究结果一致^[8,55]。此外,我们研究还表明分解速率 k 值与初始 C/N 比相关性最大,其次是与初始的木质素/N 比。通常 C/N 比和木质素/N 比高的凋落物分解较慢^[1],4 种树种中麻栎的 C/N 比和木质素/N 比都最高,且分解最慢,与前人结果一致。本研究结果也表明,在本研究区域泰山森林生态系统中,对于细菌群落多样性和叶片凋落物化学性质两个因素来说,分解速率与凋落物化学性质相关性更大一些。

参考文献 (References):

- [1] Polyakova O, Billor N. Impact of deciduous tree species on litterfall quality, decomposition rates and nutrient circulation in pine stands. *Forest Ecology and Management*, 2007, 253(1/3): 11-18.
- [2] Manzoni S, Jackson R B, Trofymow J A, Porporato A. The global stoichiometry of litter nitrogen mineralization. *Science*, 2008, 321(5889): 684-686.
- [3] Swift M J, Heal O W, Anderson J M. Decomposition in Terrestrial Ecosystems. *Studies in Ecology*, 1979, 5(14): 2772-2774.
- [4] Elliott W M, Elliott N B, Wyman R L. Relative effect of litter and forest type on rate of decomposition. *The American Midland Naturalist*, 1993, 129(1): 87-95.
- [5] 朱平, 陈仁升, 宋耀选, 韩春坛, 刘光琇, 陈拓, 张威. 祁连山中部 4 种典型植被类型土壤细菌群落结构差异. *生态学报*, 2017, 37(10): 3505-3514.
- [6] 陈法霖, 郑华, 欧阳志云, 张凯, 屠乃美. 土壤微生物群落结构对凋落物组成变化的响应. *土壤学报*, 2011, 48(3): 603-611.
- [7] Sun H, Wang Q X, Liu N, Li L, Zhang C G, Liu Z B, Zhang Y Y. Effects of different leaf litters on the physicochemical properties and bacterial communities in *Panax ginseng*-growing soil. *Applied Soil Ecology*, 2017, 111: 17-24.
- [8] 张明锦, 张健, 纪托未, 刘华, 李勋, 张艳, 杨万勤, 陈良华. 林窗对凋落物分解过程中细菌群落结构和多样性的影响. *生态环境学报*, 2015, 24(8): 1287-1294.
- [9] Kennedy A C. Bacterial diversity in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 1999, 74(1/3): 65-76.
- [10] Morgan J A W, Bending G D, White P J. Biological costs and benefits to plant-microbe interactions in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, 2005, 56(417): 1729-1739.
- [11] 杨菁, 周国英, 田媛媛, 刘倩丽, 刘成锋, 杨权, 周洁尘. 降香黄檀不同混交林土壤细菌多样性差异分析. *生态学报*, 2015, 35(24): 8117-8127.
- [12] Wright M S, Covich A P. Relative importance of bacteria and fungi in a tropical headwater stream: leaf decomposition and invertebrate feeding preference. *Microbial Ecology*, 2005, 49(4): 536-546.
- [13] Chapman S K, Koch G W. What type of diversity yields synergy during mixed litter decomposition in a natural forest ecosystem? *Plant and Soil*, 2007, 299(1/2): 153-162.
- [14] Prescott C E, Grayston S J. Tree species influence on microbial communities in litter and soil: current knowledge and research needs. *Forest Ecology and Management*, 2013, 309(4): 19-27.
- [15] 丁新景, 黄雅丽, 敬如岩, 马风云, 安然, 田琪, 陈博杰. 基于高通量测序的黄河三角洲 4 种人工林土壤细菌结构及多样性研究. *生态学报*, 2018, 38(16): 5857-5864.
- [16] 李晨华, 张彩霞, 唐立松, 熊正琴, 王保战, 贾仲君, 李彦. 长期施肥土壤微生物群落的剖面变化及其与土壤性质的关系. *微生物学报*, 2014, 54(3): 319-329.
- [17] 荣丽, 李贤伟, 朱天辉, 张健, 袁渭阳, 王巧. 光皮桦细根与扁穗牛鞭草草根分解的土壤微生物数量及优势类群. *草业学报*, 2009, 18(4): 117-124.
- [18] 郑燕, 贾仲君. 新一代高通量测序与稳定性同位素示踪 DNA/RNA 技术研究稻田红壤甲烷氧化的微生物过程. *微生物学报*, 2013, 53(2): 173-184.
- [19] 林波, 刘庆, 吴彦, 何海. 森林凋落物研究进展. *生态学杂志*, 2004, 23(1): 60-64.
- [20] Olson J S. Energy storage and the balance of producers and decomposers in ecological systems. *Ecology*, 1963, 44(2): 322-331.
- [21] Zheng Z, Ma P F, Li J, Ren L F, Bai W M, Tian Q Y, Sun W, Zhang W H. Arbuscular mycorrhizal fungal communities associated with two dominant species differ in their responses to long-term nitrogen addition in temperate grasslands. *Functional Ecology*, 2018, 32(6): 1575-1588.
- [22] 范萍萍, 吕美蓉, 李雪莹, 石小梅, 吕婧. 中国温带和亚热带 8 个树种叶和吸收根协同分解. *生态学报*, 2018, 38(7): 2395-2404.

- [23] Aber J D, Melillo J M. Nitrogen immobilization in decaying hardwood leaf litter as a function of initial nitrogen and lignin content. *Canadian Journal of Botany*, 1982, 60(11): 2263-2269.
- [24] Magill A H, Aber J D, Berntson G M, McDowell W H, Nadelhoffer K J, Melillo J M, Steudler P. Long-term nitrogen additions and nitrogen saturation in two temperate forests. *Ecosystems*, 2000, 3(3): 238-253.
- [25] Güsewell S, Gessner M O. N:P ratios influence litter decomposition and colonization by fungi and bacteria in microcosms. *Functional Ecology*, 2009, 23(1): 211-219.
- [26] 赵谷风, 蔡延(马奔), 罗媛媛, 李铭红, 于明坚. 青冈常绿阔叶林凋落物分解过程中营养元素动态. *生态学报*, 2006, 26(10): 3286-3295.
- [27] 葛晓敏, 唐罗忠, 王瑞华, 李勇, 朱玲, 贾志远, 丁晖. 杨树人工林生态系统凋落物生物量及其分解特. *生态环境学报*, 2017, 26(9): 1457-1464.
- [28] 施昀希, 黎建强, 陈奇伯, 王瑞璋, 杨丽云. 滇中高原 5 种森林类型凋落物及营养元素储量研究. *生态环境学报*, 2018, 27(4): 617-624.
- [29] Ribeiro C, Madeira M, Araújo M C. Decomposition and nutrient release from leaf litter of *Eucalyptus globulus* grown under different water and nutrient regimes. *Forest Ecology and Management*, 2002, 171(1/2): 31-41.
- [30] DeForest J L, Smemo K A, Burke D J, Elliott H L, Becker J C. Soil microbial responses to elevated phosphorus and pH in acidic temperate deciduous forests. *Biogeochemistry*, 2012, 109(1/3): 189-202.
- [31] 潘冬荣, 柳小妮, 申国珍, 谢宗强, 罗璐, 刘蕾. 神农架不同海拔典型森林凋落物的分解特征. *应用生态学报*, 2013, 24(12): 3361-3366.
- [32] 覃扬浚, 马姜明, 梅军林, 杨栋林, 庄枫红, 苏静. 漓江流域岩溶区櫟木群落不同恢复阶段凋落物分解初期动态. *生态学报*, 2017, 37(20): 6792-6799.
- [33] Wardle D A, Bardgett R D, Klironomos J N, Setälä H, van der Putten W H, Wall D H. Ecological linkages between aboveground and belowground biota. *Science*, 2004, 304(5677): 1629-1633.
- [34] Xie X H, Liu N, Yang B, Yu C Z, Zhang Q Y, Zheng X L, Xu L Y, Li R, Liu J S. Comparison of microbial community in hydrolysis acidification reactor depending on different structure dyes by illumina MiSeq sequencing. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2016, 111: 14-21.
- [35] 翟婉璐, 钟哲科, 高贵宾, 杨慧敏. 覆盖经营对雷竹林土壤细菌群落结构演变及多样性的影响. *林业科学*, 2017, 53(9): 133-142.
- [36] 薛俊增, 肖南燕, 王琼, 吴惠仙. 洋山港海域细菌群落多样性的季节变化. *生态学报*, 2016, 36(23): 7758-7767.
- [37] 滕嘉玲, 贾荣亮, 赵芸. 沙埋对干旱沙区真藓结皮层细菌群落结构和多样性的影响. *生态学报*, 2017, 37(7): 2179-2187.
- [38] Lv X F, Yu J B, Fu Y Q, Ma B, Qu F Z, Ning K, Wu H F. A meta-analysis of the bacterial and archaeal diversity observed in wetland soils. *The Scientific World Journal*, 2014(6630): 435-451.
- [39] 孙海, 王秋霞, 张春阁, 李乐, 刘政波, 刘宁, 邵财, 张亚玉, 严珺, 李跃雄. 不同树叶凋落物对人参土壤理化性质及微生物群落结构的影响. *生态学报*, 2018, 38(10): 3603-3615.
- [40] Crawford D L. Lignocellulose decomposition by selected *Streptomyces* strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 1978, 35(6): 1041-1045.
- [41] Lydell C, Dowell L, Sikaroodi M, Gillevet P, Emerson D. A population survey of members of the phylum *Bacteroidetes* isolated from salt marsh sediments along the east coast of the United States. *Microbial Ecology*, 2004, 48(2): 263-273.
- [42] 隋心, 张荣涛, 钟海秀, 许楠, 王继丰, 刘应竹, 袁海峰, 倪红伟. 利用高通量测序对三江平原小叶章湿地土壤细菌多样性的研究. *土壤*, 2015, 47(5): 919-925.
- [43] 李佳梅, 朱启良, 马璟, 高明宇, 王延平. 华北石质山地麻栎和刺槐混交林浅层细根特征. *西北林学院学报*, 2018, 33(1): 37-42.
- [44] Jones R T, Robeson M S, Lauber C L, Hamady M, Knight R, Fierer N. A comprehensive survey of soil acidobacterial diversity using pyrosequencing and clone library analyses. *The ISME Journal*, 2009, 3(4): 442-453.
- [45] Magill P D. The Electrical Properties of Thin Hydrogenated Amorphous Carbon (a-C:H) Insulating Films on Semiconductor and Metal Substrates. *Analytical Chemistry*, 2000, 59(9): 1332-1339. [46] Zhao Y Y, Wu F Z, Yang W Q, Tan B, He W. Variations in bacterial communities during foliar litter decomposition in the winter and growing seasons in an alpine forest of the eastern Tibetan Plateau. *Canadian Journal of Microbiology*, 2016, 62(1): 35-48.
- [47] 刘璐. 喀斯特峰丛洼地固氮微生物多样性及其影响因子研究[D]. 北京: 中国科学院大学, 2015.
- [48] 李红然, 贺淹才, 刘治江, 刘杨斐. 产几丁质酶菌株的分离与鉴定及产酶条件优化. *华侨大学学报: 自然科学版*, 2009, 30(5): 538-542.
- [49] 贺云龙, 齐玉春, 彭琴, 董云社, 郭树芳, 闫钟清, 王丽芹, 李兆林. 外源碳输入对陆地生态系统碳循环关键过程的影响及其微生物学驱动机制. *生态学报*, 2017, 37(2): 358-366.
- [50] 张明锦. 林窗干扰对凋落叶分解过程中微生物生物量和细菌群落结构的影响[D]. 雅安: 四川农业大学, 2016.
- [51] Hawke D J, Vallance J R. Microbial carbon concentration in samples of seabird and non-seabird forest soil: implications for leaf litter cycling. *Pedobiologia*, 2015, 58(1): 33-39.
- [52] Gosz J R, Likens G E, Bormann F H. Nutrient release from decomposing leaf and branch litter in the Hubbard brook forest, New Hampshire. *Ecological Monographs*, 1973, 43(2): 173-191.
- [53] Zhao B Y, Xing P, Wu Q L L. Microbes participated in macrophyte leaf litters decomposition in freshwater habitat. *FEMS Microbiology Ecology*, 2017, 93(10): 108.
- [54] 林成芳, 彭建勤, 洪慧滨, 杨智杰, 杨玉盛. 氮、磷养分有效性对森林凋落物分解的影响研究进展. *生态学报*, 2017, 37(1): 54-62.
- [55] Gao J, Kang F F, Li T Y, Song X S, Zhao W H, Yu X W, Han H R. Assessing the effect of leaf litter diversity on the decomposition and associated diversity of fungal assemblages. *Forests*, 2015, 6(7): 2371-2386.